植 物 分 类 与 资 源 学 报 2011，33 (2)：164～170
Plant Diversity and Resources DOI：10.3724/SP.J.1143.2011.10178

中国喜马拉雅地区特有植物黄花木属的细胞学研究*

陆覃昱，王兴江，张永增，李志敏**
（云南师范大学生命科学学院，云南 昆明 650092）

摘要：对中国喜马拉雅特有类群黄花木属（*Piptanthus*）的黄花木（*P. nepalensis*）和绒叶黄花木（*P. tomentosus*）的5个居群进行了核形态学研究。黄花木属染色体基数 $x=9$，染色体数目 $2n=18$，均为二倍体；该属种间核型存在显著差异，即黄花木居群属于1A型，绒叶黄花木属于2A型；另外，黄花木种内居群间核型公式也表现出一定的差异。该研究结果从细胞学印证和支持了前人系统学和生物地理学的推论，即绒叶黄花木（2A核型）是由黄花木或祖先（1A核型）在喜马拉雅隆升过程中由西向东扩张分化形成的。

关键词：黄花木属；居群；核型；进化
中图分类号：Q 943 **文献标识码**：A **文章编号**：2095-0845(2011)02-164-07

A Karyological Study of *Piptanthus* (Leguminosae) from Sino-Himalayas

LU Qin-Yu, WANG Xing-Jiang, ZHANG Yong-Zeng, LI Zhi-Min**
(*Life Science School*, *Yunnan Normal University*, Kunming 650092, China)

Abstract: The karyology of 5 populations, all two species of *Piptanthus* (*P. nepalensis* and *P. tomentosus*) from Sino-Himalayas were studied in this paper, of which chromosome number and the karyotype of *P. tomentosus* was firstly reported. The results show that both species *P. nepalensis* and *P. tomentosus* share the same chromosome basic number $x=9$ and $2n=18$, all of them are diploids. Statistical analyses show that there are evidently differences of karyotypes between the two species, that is, *P. nepalensis* belong to the 1A type, and *P. tomentosus* is the 2A type. In addition, there are some differences in karyotype among populations in *P. nepalensis* as well. These results are consistent with the anterior hypothesis by systematic and biogeography that *P. tomentosus* (with 2A) was resulted from the expansion and differentiation of *P. nepalensis* (with 1A) from west to east during the himalaya uplift.

Key words: *Piptanthus*; Population; Karyotype; Evolution

黄花木属（*Piptanthus*）隶属于豆科（Leguminosae）黄华族（Thermopsideae）。常生于海拔2 300～4 000 m的山坡灌丛、河滩或林缘中，分布于我国西南横断山区及喜马拉雅地区。该属有2种即黄花木（*P. nepalensis*）和绒叶黄花木（*P. tomentosus*），前者广泛分布于中国西南至印度、不丹、尼泊尔等喜马拉雅诸国，后者仅分布于中国的云南西北部和四川西南部（Wei, 2010）。

黄华族是豆科的进化主干之一（彭泽祥和袁永明, 1992），该族染色体报道较为丰富（张寿洲和曹睿, 1990；潘伯荣和黄少甫, 1993；刘玉红等, 1996）。但关于黄花木的染色体数目及核型到目前为止仅报道过西藏芒康的黄花木（*P. nepalensis*）的一个居群（刘玉红等, 1996）。

* 基金项目：国家自然科学基金项目（40930209，30770167），云南省重点项目（2008CC013），科技部基础平台专项重点项目（2007FY110100）。云南省教育厅省级精品课程项目
** 通讯作者：Author for correspondence；E-mail：lizhimin_vip@163.com
收稿日期：2010-10-19，2011-02-15 接受发表
作者简介：陆覃昱（1989-）男，2008级本科生，主要从事细胞学研究。

而绒叶黄花木（*P. tomentosus*）的染色体数目及核型尚未见报道。本文对采自西藏的 4 个黄花木居群和采自四川的 1 个绒叶黄花木居群进行了细胞学研究，并在此基础上对其种间（内）核型分化进行了初步的分析。旨在检查该属的地理分布区域中，该属不同种或居群的细胞学特征及倍性是否存在差异，探讨其细胞水平上的变异及进化趋势，并为黄花木属乃至黄华族的系统及进化研究积累基础资料。

1　材料和方法

黄花木（*P. nepalensis*）4 个居群和绒叶黄花木（*P. tomentosus*）1 个居群的种子的采集地、经纬度、海拔、凭证标本见表 1。凭证标本存于中国科学院昆明植物研究所标本馆（KUN）。

本研究采用植物染色体常规压片法。用砂纸除去部分种皮，在 22℃ 培养箱中萌发。待幼嫩根尖达到 1 cm 长时将生长旺盛的根尖取下，用 0.003 $mol \cdot L^{-1}$ 的 8-羟基喹啉避光处理 3～4 h，在 4℃ 环境下用卡诺氏固定液（无水乙醇：冰醋酸＝3：1）固定 2～24 h。在 60℃ 恒温水浴锅中用 1 $mol \cdot L^{-1}$ HCl 解离 18～20 min，卡宝品红染色至少 24 h。压片、显微镜镜检、拍照。

观察植物体细胞间期核、有丝分裂前期染色体和中期染色体。每个居群选取 60 个细胞进行染色体计数，并对 5 个染色体分散较好的细胞进行核型分析。间期核、前期染色体的形态划分按 Tanaka（1971，1977，1987）的标准；着丝粒位置确定根据 Levan 等（1964）的标准；中期核型按同源性进行配对，核型分析依据 Stebbins 对称性标准（李懋学和张赞平，1996）并参考李懋学和陈瑞阳（1985）的标准。臂比（arm ratio，AR）按 AR＝长臂/短臂计算；染色体长度比（length ratio，LR）按 LR＝最长染色体长度/最短染色体长度计算；核型不对称性系数（asymmetrical karyotype coefficient，As. K. C）按 As. K. C(％)＝长臂总长/全组染色体总长计算；染色体总形态百分比（total morphological percentage，TM％）按 TM(％)＝短臂总长/全组染色体总长计算；染色体相对长度指数（index relative length，I. R. L）按 I. R. L＝染色体长度/全组平均染色体长度计算。利用 SPSS 软件对 5 个居群的核型不对称系数（As. K. C）、臂比（AR）、染色体长度比（LR）、染色体总形态百分比（TM％）4 个指数进行了变化显著性检验以及 Q 型聚类分析。

2　结果与分析

2.1　间期核与有丝分裂前期染色体类型分析

黄花木属 2 种间及居群间的间期核和有丝分裂前期染色体的形态特征较一致。间期核中都有一些着色较深的染色体，根据 Tanaka（1971，1977，1987）的标准，属于复杂型染色体（图 1：A，B）；有丝分裂前期染色体异染色质多分布在染色体的两端，少数分布在着丝点区域，为中间型（图 1：a，b）。

2.2　染色体数目及核型分析

在观察的黄花木 4 个居群和绒叶黄花木 1 个居群中（每个居群统计 60 个细胞），每个居群至少有 90％ 的细胞具有 18 条染色体，故可以确定它们均为二倍体，为 $2n=18$，其中有 1 对染色体具随体，未见多倍现象（表 2，图 2）。

核型分析表明，黄花木属 1A 型。绒叶黄花木（木里卡拉）属 2A 型（表 2）。I. R. L 中，绒叶黄花木（木里卡拉）有 L 染色体，而黄花木仅有 M_1 和 M_2 染色体。所有 2 个种的居群中随体均位于短臂上。臂比存在一定的差异，具 m 与 sm 型两类染色体，臂比最小值为居群 1（波密通麦）的为 1.10，臂比最大值为居群 5（木里卡拉）的为 2.15。TM％ 值的变化范围在 38.87％～42.68％，集中于 40％ 左右。

表 1　实验材料来源

Table 1　The origin of the materials

居群号 Population No.	分类群 Taxon	采集地 Locality	经纬度 Position	海拔 Altitude (m)	凭证标本 Voucher (KUN)
1	*P. nepalensis*	西藏波密通麦 Tongmai，Bomi，Tibet	N29°57′38″，E95°22′17″	2 620	SunH-07ZX-2584
2	*P. nepalensis*	西藏波密忠坝 Zhongba，Bomi，Tibet	N29°44′57″，E95°59′27″	3 000	SunH-07ZX-2526
3	*P. nepalensis*	西藏波密玉普 Yupu，Bomi，Tibet	N29°36′46″，E96°22′57″	2 900	SunH-07ZX-2557
4	*P. nepalensis*	西藏吉隆卓汤 Zuotang，Gyirong，Tibet	N28°31′06″，E85°13′02″	3 600	Nie-992
5	*P. tomentosus*	四川木里卡拉 Kala，Muli，Sichuan	N28°05′29″，E101°10′01″	3 319	Nie-1102

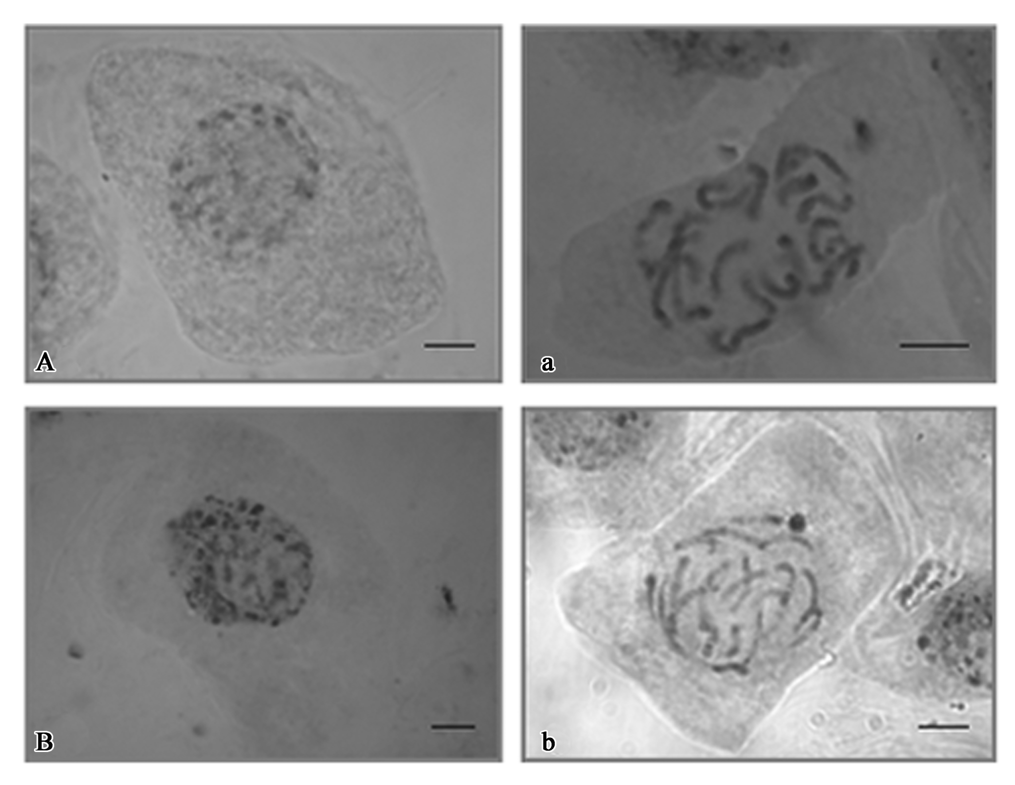


图1 黄花木属的间期核，有丝分裂前期染色体（标尺=5 μm）

A. 黄花木间期核；a. 黄花木有丝分裂前期染色体；B. 绒叶黄花木间期核；b. 绒叶黄花木分裂前期染色体

Fig. 1 Interphase nuclei and Mitotic prophases of *Piptanthus* (Scale bars=5 μm)

A. Interphase nuclei of *P. nepalensis*; a. Mitotic prophases of *P. nepalensis*;

B. Interphase nuclei of *P. tomentosus*; b. Mitotic prophases of *P. tomentosus*

表2 黄花木属各居群核型比较

Table 2 Comparison of karyotype in each population of *Piptanthus*

居群 Population	分类群 Taxon	核型公式 Formula of karyotypes	染色体相对长度指数 I. R. L	染色体长度比 LR	核型分类 Classical of karyotypes	染色体总形态百分比（%）TM
1	*P. nepalensis*	$2n=2x=18=18m$ (2SAT)	$3M_2+6M_1$	1.47	1A	42.60
2	*P. nepalensis*	$2n=2x=18=16m$ (2SAT) +2sm	$4M_2+5M_1$	1.46	1A	42.68
3	*P. nepalensis*	$2n=2x=18=16m$ (2SAT) +2sm	$5M_2+4M_1$	1.31	1A	40.62
4	*P. nepalensis*	$2n=2x=18=12m$ (2SAT) +6sm	$4M_2+5M_1$	1.31	1A	40.82
5	*P. tomentosus*	$2n=2x=18=12m$ (2SAT) +6sm	$L+3M_2+5M_1$	1.57	2A	38.87

随体未计算在染色体长度内；居群编号与表1相似。

Satellite not in chromosome leght; The number of populations are the same as in table 1.

2.3 核型指标的变异显著性检验

由于核型不对称系数（As. K. C）、臂比（AR）、染色体总形态百分比（TM%）三个数据方差同质，故对2个种共5个居群的上述三个核型指标进行Duncan检验（表3）。结果表明：在核型不对称系数（As. K. C）、臂比（AR）以及染色体总形态百分比（TM%）上，绒叶黄花木与黄花木4个居群差异达到显著水平。黄花木的居群3、4与居群1、2间也有差异。

由于染色体长度比（LR）数据方差不同质，故对5个居群的该指标进行Kruskal-Wallis检验，其结果为：各居群平均值按居群1~4（黄花木）和5（绒叶黄花木）分别为13.60、15.40、7.80、10.20、18.00，卡方统计量为6.092，显著性为0.192。由于其显著性大于显著水平0.050，所以5个居群的染色体长度比（LR）并不存在显著差异。

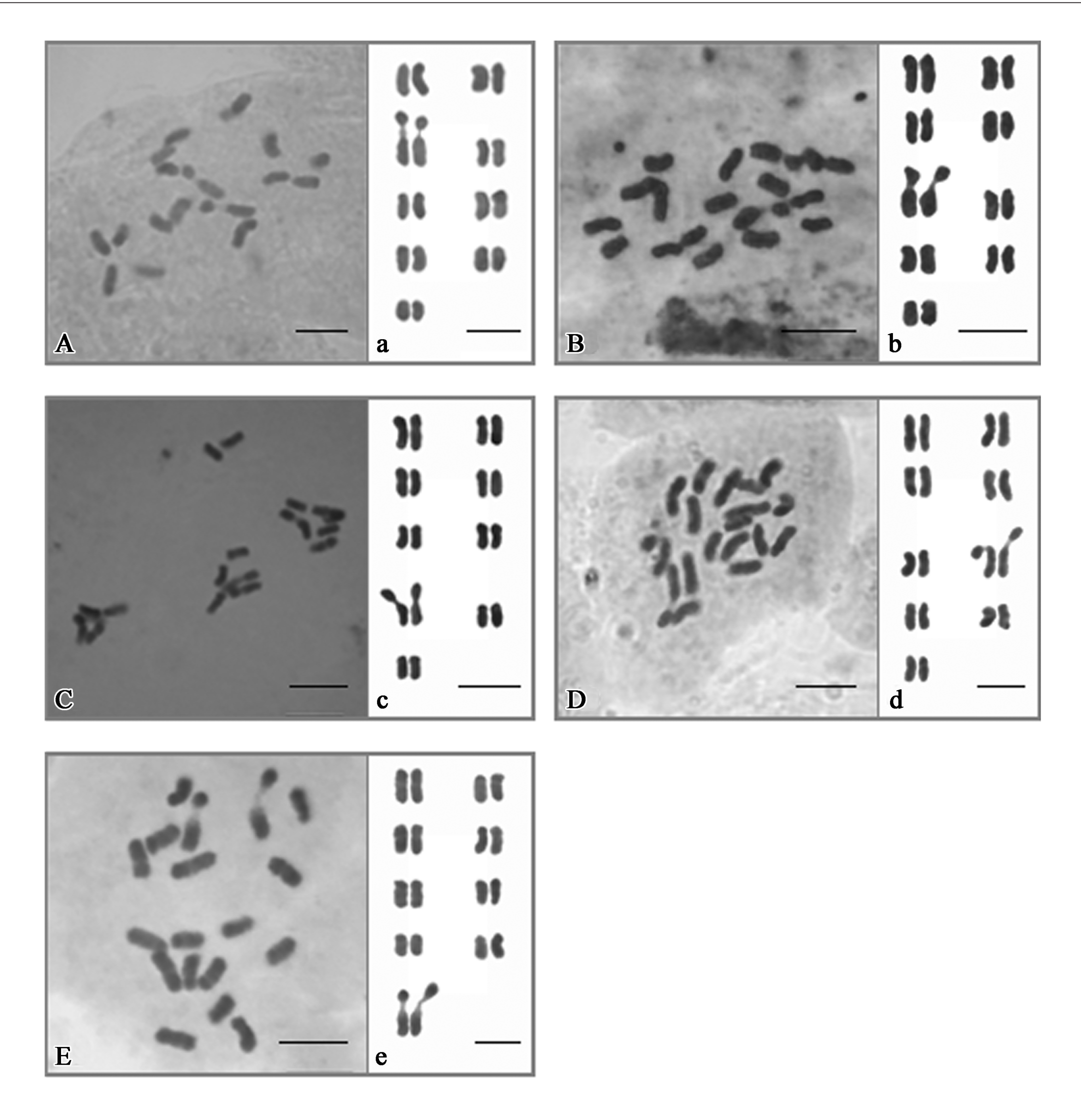


图 2　黄花木属各居群的中期染色体，染色体核型图（居群 1 ~ 4 为黄花木，居群 5 为绒叶黄花木，标尺 = 5 μm）

A. 居群 1 中期染色体；a. 居群 1 染色体核型图；B. 居群 2 中期染色体；b. 居群 2 染色体核型图；C. 居群 3 中期染色体；c. 居群 3 染色体核型图；D. 居群 4 中期染色体；d. 居群 4 染色体核型图；E. 居群 5 中期染色体；e. 居群 5 染色体核型图

Fig. 2　Mitotic metaphases and karyotypes of each population in *Piptanthus* (Population 1–4 are *P. nepalensis*, population 5 is *P. tomentosus*, Scale bars = 5 μm)

A. Mitotic metaphases of population 1; a. Karyotypes of population 1; B. Mitotic metaphases of population 2; b. Karyotypes of population 2; C. Mitotic metaphases of population 3; c. Karyotypes of population 3; D. Mitotic metaphases of population 4; d. Karyotypes of population 4; E. Mitotic metaphases of population 5; e. Karyotypes of population 5

表 3　黄花木和绒叶黄花木居群核型指标的 Duncan 检验

Table 3　The Duncan's test of karyotypes in the populations of *P. nepalensis* and *P. tomentosus*

居群号 Population No.	分类群 Taxon	核型不对称系数（%）As. K. C	臂比 AR	染色体总形态百分比（%）TM
1	*P. nepalensis*	57.40c	1.35c	42.60a
2	*P. nepalensis*	57.32c	1.34c	42.68a
3	*P. nepalensis*	59.38b	1.46b	40.62b
4	*P. nepalensis*	58.96b	1.44b	40.82b
5	*P. tomentosus*	61.13a	1.57a	38.87c

种的居群编号与表 1 一致；同列中不同小写字母表示差异达 5% 显著水平

The number of populations are the same as in table 1; The different small letters in the same line are significantly different at 5%

2.4 聚类分析结果

利用SPSS软件对我们报道的4个黄花木居群、1个绒叶黄花木居群及刘玉红等（1996）报道的采于西藏昌都地区芒康县的黄花木（芒康居群）的核型不对称系数（As. K. C）、臂比（AR）、染色体长度比（LR）、染色体总形态百分比（TM%）4个指数进行了Q型聚类分析（图3）。

结果表明，当距离取10时可以将6个居群分为3类：第I类包括居群1、居群2以及芒康居群（黄花木）；第II类包括居群3和居群4（黄花木）；第III类包括居群5（绒叶黄花木）。划分为同一类的居群染色体特征相似性大。

由Q型聚类结果可知（表4），第I类染色体总形态百分比（TM%）最大，为42.84；第III类核型不对称系数（As. C. K）及臂比（AR）最大，分别为61.13和1.57；而第I类与第III类的染色体长度比相等，第II类各项指标值居中。

2.5 黄花木属染色体进化趋势分析

将绒叶黄花木和黄花木5个居群与刘玉红等（1996）报道的采于西藏昌都地区芒康县的黄花木（芒康居群，我们表述为居群6）进行进化趋势分析（图4），根据Stebbins（1971）的研究，平均臂比（MAR）和长度比（LR）可以表示不同种质间核型的不对称性，二者愈大，其核型愈不对称。从二维进化趋势图（图4：A）可以看出：（1）该属染色体均有沿MAR和LR增加的进化趋势；（2）该属2个种居群核型明显呈“双向进化趋势”，即一些居群沿MAR进化较快，如绒叶黄花木居群（居群5）比黄花木的芒康居群（居群6）提高了0.26；相反一些居群沿

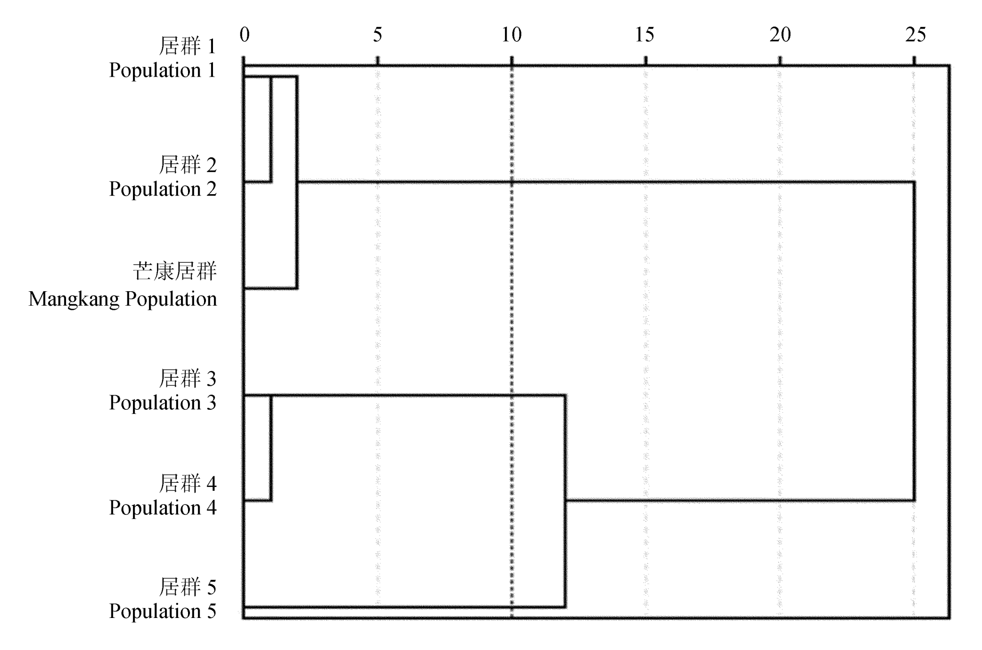


图3　6个黄花木属居群聚类分析（居群1～4和芒康居群为黄花木，居群5为绒叶黄花木）

Fig. 3　Cluster analysis on six populations of *Piptanthus* (Population 1–4 and Mangkang population are *P. nepalensis*, Population 5 is *P. tomentosus*)

表4　黄花木属居群Q型聚类分析

Table 4　Q-cluster on *Piptanthus* populations

种类 Class	居群数 No. of populations	分类群组成 Taxon composition	核型不对称系数（%） As. K. C	臂比 AR	染色体长度比 LR	染色体总形态百分比（%） TM
I	3	*P. nepalensis*	57.16(0.63)	1.34(1.50)	1.57(10.91)	42.84(0.84)
II	2	*P. nepalensis*	59.17(0.50)	1.45(0.90)	1.31(0.12)	40.72(0.35)
III	1	*P. tomentosus*	61.13	1.57	1.57	38.87

括号内数值为变异系数（%）。CV (%) in brackets.

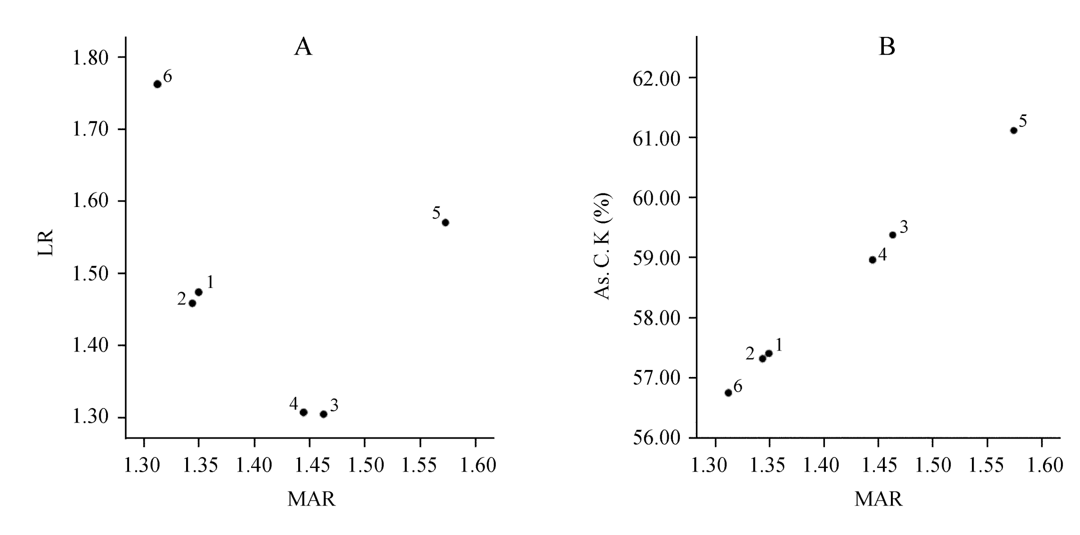


图 4　黄花木属 6 个居群核型进化趋势图

A：MAR 和 LR 的二维进化趋势图；B：MAR 和 As. K. C 的二维进化趋势图

（居群编号与表 1 相一致，居群 6 为芒康居群（刘玉红等，1996））

Fig. 4　Evolution trend of karyotype in six populations of *Piptanthus*

A: Two-dimensional representation of evolutionary trend of MAR and LR; B: Two-dimensional representation of evolutionary trend of MAR and As. K. C (The number of populations are same as table 1, population 6 is Mangkang population (Liu *et al.*, 1996))

LR 进化较快，如芒康居群（居群 6）比居群 3、4 提高了 0.45；（3）黄花木种内居群显示出较为单一的进化趋势如芒康居群（居群 6）的进化主要集中于 LR 上，而居群 3 与 4 的进化主要集中于 MAR 上。

MAR 和 Ac. K. C 的二维进化趋势图（图 4：B）则表明，6 个居群按 MAR 和 As. K. C 向右上角方向进化。

3　讨论

在已报道的黄华族其它类群的细胞学资料中，*Anagyris* 属的 *A. foetida* 的染色体数目为 $2n=18$（Van 等，1971）；黄华属（*Thermopsis*）的紫花黄华（*T. barbata*）的染色体数目为 $2n=18$，为 2A 型，沙冬青属（*Ammopiptanthus*）的矮沙冬青（*A. nanus*）的染色体数目为 $2n=18$，为 2A 型，沙冬青（*A. mongolicus*）的染色体数目为 $2n=18$，为 3A 型（刘玉红等，1996）；由此可见黄华族的倍性及染色体基数较为稳定，但核型不对称性上有差异。似乎表明黄华族的几个类群在细胞水平上的进化仅局限于核型不对称性的分化上。

本研究得出的黄花木属的结果也与之类似，2 种间或居群间不存在染色体数目及倍性差异，均为二倍体，染色体基数 $x=9$，染色体数目 $2n=18$，且 2 种每个居群中均有一对染色体短臂上具有一个随体。但在种间核型上则存在明显差异，即黄花木居群（含刘玉红等（1996）所报道核型）属于 1A 型，绒叶黄花木属于 2A 型；此外，在黄花木种内居群间核型公式也表现出一定的差异（表 3）。

平均臂比（MAR）和核型不对称系数（As. K. C）则从另一角度反映了核型的不对称性，二者愈大，核型愈不对称。利用 MAR 和 Ac. K. C 的二维进化趋势图（图 4：B）发现，该属 2 种共 6 个居群按 MAR 和 As. K. C 向右上角方向进化，绒叶黄花木居群（居群 5）的 MAR 及 As. K. C 均最大，最为进化；相比之下，黄花木的芒康居群（居群 6）则较为原始。

黄花木的 TM 值变化范围为 40.62% ~42.68%，集中于 41% 左右，与刘玉红等（1996）所报道的 43.25 略有差异。染色体具有对称特征常意味着该种植物在进化中是属于原始性的，TM% 值越接近 50% 则越对称（韩一凡等，1984）。黄花木属的 TM% 值分布于接近对称与绝对对称之间，这表明黄花木属在核型的进化中仍处于较低水平。而绒叶黄花木的 TM% 值则为 38.87，意味

着绒叶黄花木较黄花木进化。

但孤立地用被子植物核型的进化规律（Stebbins, 1971）即由对称向不对称进化的基本趋势来讨论具体类群的进化，通常会导致片面的结论。因此，还应该考虑其它方面的证据。王恒昌和孙航（2001）的研究表明黄华族可能起源于古北大陆南端的古地中海地区，黄花木属的近缘类群 *Anagyris* 分布于现代地中海地区，黄华族一些孤立古老的类群如沙冬青（*Ammopiptanthus*）等分布于中亚干旱区，表明黄花木属也有着古地中海起源的背景（王恒昌和孙航, 2001）。从形态-地理分析上看，黄花木分布范围最广可达西喜马拉雅的克什米尔及巴基斯坦东北部，地质历史上该区域曾属古地中海范围，其形态性状也较原始（Yuan 和 Peng, 1990），可能是黄花木属较早出现的类群。而位于该属分布区东部，且分布范围较小（四川西南和云南西北部）的绒叶黄花木则被认为是喜马拉雅隆升过程中形成的年轻类群（王恒昌和孙航, 2001）。本研究结果同上述结论相吻合，表明了位于黄花木属分布区东翼的具有 2A 型的绒叶黄花木要比分布范围更广（可达西喜马拉雅地区）的具有 1A 型的黄花木进化。因此，我们的细胞学研究结果也印证和支持绒叶黄花木是黄花木或祖先类群向东扩散分化形成的年轻类群的推论。当然，要完全证实该推论还需对更多的特别是绒叶黄花木居群进行分析以及其它证据的支持。

致谢 中国科学院昆明植物研究所高山植物多样性研究组提供实验条件，聂泽龙博士等提供种子材料，陈林阳给予了协助。云南师范大学生命科学学院杨丽娥、孙文光、邓凤飞等在实验上给予帮助。

〔参 考 文 献〕

李懋学, 张赞平, 1996. 作物染色体及其研究技术［M］. 北京: 中国农业出版社, 1—22

Han YF（韩一凡）, Yang ZX（杨自湘）, Tong YC（佟永昌）*et al.*, 1984. Studies on the karyotype of geographical provenance of *Cunninghamia lanceolata*［J］. *Scientia Silvae Sinicae*（林业科学）, **20**（2）: 113—121

Levan A, Fedga K, Sandberg AA, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes［J］. *Hereditas*, **52**: 201—220

Li MX（李懋学）, Chen RY（陈瑞阳）, 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants［J］. *Journal of Wuhan Botanical Research*（武汉植物学研究）, **3**（4）: 297—302

Liu YH（刘玉红）, Wang HS（王荷生）, Wang SM（王善敏）, 1996. A study on the chromosomal geography of *Ammopiptanthus* genus［J］. *Geographical Research*（地理研究）, **15**（4）: 40—47

Pan BR（潘伯荣）, Huang SF（黄少甫）, 1993. A cytological study of the genus *Ammopiptanthus*［J］. *Acta Botanica Sinica*（植物学报）, **35**（4）: 314—317

Peng ZX（彭泽祥）, Yuan YM（袁永明）, 1992. Systematic revision on Thermopsideae（leguminosae）of China［J］. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*（西北植物学报）, **12**（2）: 158—166

Stebbins GL, 1971. *Chromosomal Evolution in Higher Plants*［M］. London: Edward Arnold Ltd, 72—123

Tanaka R, 1971. Types of resting nuclei in Orchidaceae［J］. *Botanical Magazine Tokyo*, **84**: 118—122

Tanaka R, 1977. Recent karyotype studies［A］. In: Ogawa K, Koike S, Kurosumi I *et al.*, eds. *Plant Cytology*［M］. Tokyo: Asakura, 293—326

Tanaka R, 1987. The karyotype theory and wide crossing as an example in *Orchidaceae*［A］. In: Hong DY ed, 1989. *Plant Chromosome Research*［M］. Hiroshima: Proceedings of the Sino-Japanese Symposium on Plant Chromosomes, 1—10

Van L, Chr J, Gadella Th WJ *et al.*, 1971. Cytological studies in some flowering plants from Southern France［J］. *Acta Botanica Neerlandica*, **20**: 157—166

Wang HC（王恒昌）, Sun H（孙航）, 2001. A preliminary study on phytogeography of the tribe Thermopsideae（Papilionaceae）［J］. *Acta Botanica Yunnanica*（云南植物研究）, **23**（1）: 17—28

Wei Z, 2010. *Piptanthus*［A］. In: Wu ZY, Raven P eds, *Flora of China*［M］. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, **10**: 100—101

Yuan YM, Peng ZX, 1990. An evaluation on morphology and systematic of Thermopsideae（Leguminosae）from China［J］. *Chinese Journal of Botany*, **2**（2）: 141—149

Zhang SZ（张寿洲）, Cao Z（曹睿）, 1990. Study on chromosome number and karyotype of *Ammopiptanthus mongolicus*［J］. *Acta Phytotaxonomica Sinica*（植物分类学报）, **28**（2）: 133—135